应激和饲粮能量水平对肉仔鸡肝脏脂肪合成能力的影响

蔡元丽[1]　林　海[2*]

（1.齐鲁师范学院生命科学学院，济南 250013；2.山东农业大学动物科技学院，泰安 271018）

摘　要：本研究旨在探讨应激和饲粮能量水平对肉仔鸡肝脏脂肪酸合成酶（fatty acid synthase,FAS）活性以及腺苷一磷酸激活的蛋白激酶（AMP-activated protein kinase，*AMPK*）和固醇调节元件结合蛋白–1（sterol-regulatory element binding proteins-1,*SREBP*-1）基因 mRNA 表达量的影响，从而阐明应激造成肉仔鸡脂肪肝的原因，并寻找缓解应激的方法。本研究共有 4 个试验。前 2 个试验分别针对 3~9 日龄和 28~34 日龄的肉仔鸡，分别给予皮质酮和高、低能量水平饲粮的处理，试验结束后取肝脏，测定 FAS 活性。第 3 个试验选取 7 日龄体重相近的爱拔益加雄性肉鸡 108 只，随机分为 3 组：应激组（注射地塞米松）、对照组（注射生理盐水）和配对组（注射生理盐水，采食量与应激组前 1 d 的相同）。连续注射 7 d。14 日龄取肝脏，测定肝脏中甘油三酯的含量以及 *AMPK* 和 *SREBP*-1 mRNA 的表达量。最后 1 个试验给予 3~9 日龄肉仔鸡皮质酮和葡萄糖饮水处理，试验结束测定肝脏 FAS 活性。结果发现：1）皮质酮处理极显著提高了 3~9 日龄肉仔鸡肝脏 FAS 的活性（$P<0.01$），对 28~34 日龄肉仔鸡的影响也有相似的趋势（$P=0.051\ 2$）。2）与配对组相比，地塞米松处理显著增加了肝脏中甘油三酯的含量（$P<0.05$），显著提高了肝脏中 *AMPK* mRNA 的表达量（$P<0.05$）；且地塞米松处理使得肝脏中 *SREBP*-1 mRNA 的表达量显著高于对照组和配对组（$P<0.05$）。3）给应激组的肉仔鸡饮水中添加葡萄糖能显著降低肝脏 FAS 活性（$P<0.05$）。结果表明：皮质酮处理会提高肉仔鸡肝脏 FAS 的活性，地塞米松处理则可显著提高肝脏 *SREBP*-1 mRNA 的表达量，且能激活 AMPK，而葡萄糖具有缓解应激的作用。

关键词：肉仔鸡；应激；脂肪沉积；FAS；AMPK；SREBP-1

中图分类号：S831

在目前集约化的饲养方式下，肉鸡面临各种应激，如高温、拥挤、免疫接种、运输等，这导致肉鸡生产性能下降、抗病力下降、繁殖性能降低及肉品质变差。有许多应激源用于研究动物的应激反应，包括外源性促肾上腺皮质激素直接处理导致的肾上腺分泌的调节，也包括外源性类固醇激素（皮质酮、可的松、皮质醇和地塞米松）的处理。除此之外，各种环境条件包括冷、热应激也可用于研究应激反应。

外源性糖皮质激素能促进大鼠肠系膜区的脂肪沉积[1]，这样能量储存就以朝着向内部沉积的方式进行重新分配[2-3]。皮质酮处理的肉仔鸡骨骼肌生长受阻，而脂肪沉积增加，这表

收稿日期：2016–02–02

基金项目：国家自然科学基金（30771573）

作者简介：蔡元丽（1976–），女，山东章丘人，副教授，博士，主要研究方向为动物营养与生理。E-mail: yuanlicai@163.com；

*通信作者：林　海，教授，博士生导师，E-mail: hailin@sdau.edu.cn

明应激能使能量储存朝着有利于肉仔鸡脂肪沉积的方向发生重新分配[4-6]。笔者以前的试验也表明，地塞米松处理的肉仔鸡肝脏和脂肪组织的脂肪沉积增加[7]。而在小鼠上的研究证实，采食高碳水化合物和高能量水平饲粮不仅能促进机体对能量的摄入，而且还能够提高肝脏甘油三酯的含量[8]。以上的研究表明，应激和高能量水平饲粮都能促进体内脂肪的沉积，但并没有阐述具体的机制。因此，本试验分别用皮质酮、地塞米松、高或低能量水平饲粮来处理肉仔鸡，并从肝脏脂肪酸合成酶（fatty acid synthase,FAS）活性以及腺苷一磷酸激活的蛋白激酶（AMP-activated protein kinase，*AMPK*）和固醇调节元件结合蛋白–1（sterol-regulatory element binding proteins-1,*SREBP*-1）基因 mRNA 表达量这些指标进行分析，旨在探讨应激和高能量水平饲粮引起肉仔鸡脂肪沉积的原因，最后通过在饮水中添加葡萄糖来探讨葡萄糖是否具有缓解应激的作用。

1　材料与方法

1.1　试验设计

1.1.1　试验 1：饲粮能量水平和皮质酮处理对 3~9 日龄肉仔鸡肝脏 FAS 活性的影响

选择体重相近的 1 日龄爱拔益加（AA）肉仔公鸡 144 只，分为正常组和应激组，各组下设 2 个饲粮处理（高能饲粮和低能饲粮），每个处理 3 个重复，每个重复 12 只鸡，共 12 栏。肉鸡 3～9 日龄，应激组在饲粮中添加 30 mg/kg 皮质酮（购自 Sigma 公司，皮质酮含量≥92%，下同）。试验期间自由采食和饮水。鸡舍内温度、湿度、光照和卫生学指标符合《实验动物环境及设施》(GB 14925—1994)。试验前 2 d 饲喂商品饲粮，其中粗蛋白质为 21.5%、代谢能为 12.6 MJ/kg。试验 1 试验饲粮组成及营养水平见表 1，其中除能量外饲粮营养水平及维生素、微量元素均满足 NRC（1994）推荐肉鸡营养标准。

样品采集：于肉鸡 10 日龄 08：00，每个重复各取 4 只鸡，称重后屠宰取肝脏，用液氮速冻后于冰箱内冷冻保存。

表 1　试验 1 试验饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1　Composition and nutrient levels of experimental diets in the 1st experiment　(air-dry basis)　%

项目 Items	低能饲粮 Low energy diet	高能饲粮 High energy diet
原料 Ingredients		
玉米 Corn	43.70	49.39
麸皮 Wheat bran	15.00	
豆油 Soybean oil	2.00	12.80
豆粕 Soybean meal	27.31	31.61
鱼粉 Fish meal	3.00	3.00
食盐 NaCl	0.21	0.21
麦饭石 Medical stone	6.08	
石粉 Limestone	1.35	1.50
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	0.70	0.85

氯化胆碱 Choline chloride	0.26	0.26
L-赖氨酸 *L*-Lys	0.03	
蛋氨酸 Met	0.14	0.16
维生素预混料 Vitamin premix[1]	0.02	0.02
微量元素预混料 Trace mineral premix[1]	0.20	0.20
合计 Total	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels[2]		
代谢能 ME/(MJ/kg)	10.96	15.16
粗蛋白质 CP	20.00	20.00
钙 Ca	1.00	0.90
有效磷 AP	0.35	0.35
食盐 NaCl	0.30	0.30
可消化赖氨酸 Digestible Lys	0.95	0.97
可消化蛋氨酸 Digestible Met	0.43	0.42
可消化蛋氨酸＋可消化半胱氨酸 Digestible Met+digestible Cys	0.68	0.68

[1] 预混料为每千克饲粮提供 The premix provided the following per kg of diets：VA 8 000 IU，VB_1 4 mg，VB_2 3.6 mg，VB_5 40 mg，VB_6 4 mg，VB_{12} 0.02 mg，VD_3 3 000 IU，VE 20 IU，VK_3 2 mg，生物素 biotin 0.15 mg，叶酸 folic acid 1.0 mg，*D*–泛酸 *D*-pantothenic acid 11 mg，烟酸 nicotinic acid 10 mg，抗氧化剂 antioxidant 100 mg，Cu (as copper sulfate) 10 mg，Fe (as ferrous sulfate) 80 mg，Mn (as manganese sulfate) 80 mg，Zn (as zinc sulfate) 75 mg，I (as potassium iodide) 0.40 mg，Se (as sodium selenite) 0.30 mg。表 2 同 The same as Table 2。

[2] 代谢能为计算值，其余为实测值。ME was a calculated value, while the others were measured values. 表 2 同。The same as Table 2.

1.1.2　试验 2：饲粮能量水平和皮质酮处理对 28~34 日龄肉仔鸡肝脏 FAS 活性的影响

选择体重相近的 1 日龄 AA 肉仔公鸡 144 只，分为正常组和应激组，各组下设 2 个饲粮处理（高能饲粮和低能饲粮），每个处理 3 个重复，每个重复 12 只鸡，共 12 栏。试验期为 28～34 日龄。试鸡 1～21 日龄和 22～27 日龄分别饲喂商品饲粮（粗蛋白质分别为 21.5%和 20.0%，代谢能分别为 12.6 和 12.8 MJ/kg）。试验鸡 28～34 日龄饲喂试验 2 试验饲粮，其中，应激组在饲粮中添加 30 mg/kg 皮质酮。试验期间自由采食和饮水。鸡舍内温度、湿度、光照和卫生学指标符合《实验动物环境及设施》(GB 14925—1994)。试验 2 试验饲粮组成及营养水平见表 2，其中除能量外饲粮营养水平及维生素、微量元素均满足 NRC（1994）推荐肉鸡营养标准。

样品采集：于肉鸡 35 日龄 08：00，每个重复各取 4 只鸡，称重后屠宰取肝脏，用液氮速冻后于冰箱内冷冻保存。

表 2　试验 2 试验饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 2　Composition and nutrient levels of experimental diets in the 2nd experiment　（air-dry basis）　%

项目 Items	低能饲粮 Low energy diet	高能饲粮 High energy diet
原料 Ingredients		
玉米 Corn	46.73	50.27
麸皮 Wheat bran	15.00	
豆油 Soybean oil	2.00	12.88
豆粕 Soybean meal	27.31	33.30
食盐 NaCl	0.21	0.31
麦饭石 Medical stone	6.08	
石粉 Limestone	1.35	1.39
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	0.70	1.44
氯化胆碱 Choline chloride	0.26	0.06
蛋氨酸 Met	0.14	0.13
维生素预混料 Vitamin premix	0.02	0.02
微量元素预混料 Trace mineral premix	0.20	0.20
合计 Total	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels		
代谢能 ME/(MJ/kg)	11.76	15.12
粗蛋白质 CP	19.33	19.00
钙 Ca	0.95	0.90
有效磷 AP	0.41	0.41
食盐 NaCl	0.30	0.30
可消化赖氨酸 Digestible Lys	0.88	0.91
可消化蛋氨酸 Digestible Met	0.36	0.36
可消化蛋氨酸＋可消化半胱氨酸 Digestible Met+digestible Cys	0.62	0.62

1.1.3　试验 3：地塞米松处理对肉仔鸡肝脏 *AMPK* 和 *SREBP*-1 mRNA 表达量的影响

选取 1 日龄体重相近的 AA 肉仔公鸡 108 只，随机分为 3 组（应激组、对照组和配对组），每组 3 个重复，每个重复 12 只鸡，自由采食和饮水至 7 日龄 08：00 开始试验。应激组每天 08：00 腹部皮下注射地塞米松(1 mg/mL)，剂量为 2.0 mg/kg BW，自由采食和饮水；对照组注射与应激组相同体积的生理盐水，自由采食和饮水；配对组注射与应激组相同体积的生理盐水，同时按照应激组前 1 d 的采食量饲喂。连续注射 7 d。每天称重并统计采食量。

样品采集：于 14 日龄每组取 8 只鸡，08：00 取样，取样前试鸡空腹 12 h 但不限制饮水。取肝脏放入液氮中速冻，用于分析甘油三酯和 *AMPK*、*SREBP*-1 mRNA 的表达量。

1.1.4　试验 4：皮质酮处理和葡萄糖饮水对肉仔鸡肝脏 FAS 活性的影响

选取试验鸡共 96 只，分为正常组和应激组，各设 2 个处理，葡萄糖饮水和糖精饮水对照，每个处理 3 个重复，每个重复 8 只鸡。肉鸡 3～9 日龄，应激组在饲粮中添加 30 mg/kg 皮质酮。葡萄糖饮水的浓度为 80 g/L，以糖精作为葡萄糖的空白对照。为使糖精与葡萄糖甜

度一致，糖精浓度为 2 g/L。

样品采集：同试验 1。

1.2　指标测定

1.2.1　肝脏中 FAS 活性的测定

肝脏中 FAS 活性参照 Halestrap 等[9]的方法测定。

酶液的制备：肝脏在冰冷的匀浆缓冲液中匀浆（组织和匀浆缓冲液的比例是 1∶2），然后在 100 000 ×*g* 4 ℃下离心 1 h，取上清液用于分析 FAS 活性。

用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液（pH 6.5）配制反应液，反应液包含 0.1 mmol/L 还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸和 25 μmol/L 乙酰辅酶 A。

取 1 000 μL 上述反应液，在 37 ℃水浴中预温 4 min，加入上清酶液 100 μL，最后迅速加入 1.38 mmol/L 的丙二酰辅酶 50 μL。在 0.5 cm 光径的石英比色皿中，在 340 nm 波长下，测定 1 min 内吸光度的变化。

1.2.2　肝脏中甘油三酯含量的测定

取 1 g 肝脏溶于 10 mL 异丙醇中，提取肝脏中的甘油三酯，采用酶法、用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定肝脏中甘油三酯含量。

1.2.3　肝脏中总 RNA 的提取与分析

1.2.3.1　肝脏中总 RNA 的提取

肝脏中总 RNA 的提取采用 Trizol 法。

1.2.3.2　反转录

根据 TaKaRa RNA PCR Kit(AMV) Ver. 3.0 Code:DRR019A 试剂盒说明操作，采取 10 μL 体系将总 RNA 反转录为 cDNA。

反转录条件：42 ℃、20 min→99 ℃、5 min→5 ℃、5 min，1 个循环。

1.2.3.3　实时荧光定量 PCR

实时荧光相对定量 PCR 采用 SYBR Green Ⅰ染料法，采用 TaKaRa（大连）公司的 SYBR Premix Ex Taq™（Perfect Real Time）TaKaRa Code：DRR041A 试剂盒方法进行。反应在美国 ABI 7500 荧光定量 PCR 仪上进行。反应体系 20 μL。引物均由上海生工生物工程公司合成，上、下游引物序列见表 3。

荧光定量 PCR 的反应采用两步法，条件为：95 ℃预变性 10 s，接下来是 40 个循环，条件是 95 ℃ 5 s→60 ℃ 34 s。

表 3　引物序列

Table 3　Primer sequences

基因 Genes	Genbank 登录号 Genbank accession number	引物序列 Primer sequences (5′—3′)	产物大小 Product size/bp
磷酸甘油醛脱氢酶 *GAPDH*	NM_204305	F:CTACACACGGACACTTCAAG	244

		R:ACAAACATGGGGGCATCAG	
固醇调节元件结合蛋白–1 *SREBP*-1	AY029244	F:GCCCTCTGTGCCTTTGTCTTC R:ACTCAGCCATGATGCTTCTTCC	130
腺苷一磷酸激活的蛋白激酶 *AMPK*	DQ302133	F:CATCTGTCTCGCCCTCATCC R:GCCACTTCGCTCTTCTTACACC	127

1.3　数据分析

试验数据用平均值±标准误（$\bar{x}$±SE）表示，数据统计采用 SAS 8.0 统计软件 ANOVA 程序进行方差分析，其中试验 1、试验 2 和试验 4 采用双因子模型分析，试验 3 采用单因子模型分析。*P*<0.05 为差异显著，*P*<0.01 为差异极显著。

2　结果与分析

2.1　饲粮能量水平和皮质酮处理对 3~9 日龄肉仔鸡肝脏 FAS 活性的影响

由表 4 可见，无论是在高能还是低能的饲粮条件下，皮质酮处理都极显著提高了 3~9 日龄肉仔鸡肝脏中 FAS 的活性（*P*<0.01）；而饲粮能量水平并未对肝脏 FAS 的活性造成显著的影响（*P*>0.05）；且皮质酮处理和饲粮能量水平也没有显著的交互作用（*P*>0.05）。

表 4　饲粮能量水平和皮质酮处理对 3~9 日龄肉仔鸡肝脏 FAS 活性的影响

Table 4　Effects of dietary energy level and corticosterone treatment on FAS activity in liver of chickens aged from 3 to 9 days　　nmol/mg prot

组别 Groups	高能饲粮 High energy diet	低能饲粮 Low energy diet	平均值 Average	*P* 值 *P*-value		
				皮质酮 Corticosterone	饲粮能量水平 Dietary energy level	交互作用 Interaction effect
对照组 Control group	41.94±7.87^{B}	34.16±1.90^{B}	39.72^{B}	0.007 1	0.783 7	0.778 7
应激组 Stress group	79.47±18.55^{A}	78.99±6.62^{A}	79.23^{A}			
平均值 Average	58.62	64.05				

同列数据肩标不同大写字母表示差异极显著（*P*<0.01)，。

Values in the same column with different capital letter superscripts mean significantly different (*P*<0.01).

2.2　饲粮能量水平和皮质酮处理对 28~34 日龄肉仔鸡肝脏 FAS 活性的影响

由表 5 可见，皮质酮处理有提高了 28~34 日龄肉仔鸡肝脏中 FAS 的活性的趋势（*P*=0.051 2）；而饲粮能量水平并未对肝脏 FAS 的活性造成显著的影响（*P*>0.05）；且皮质酮处理和饲粮能量水平也没有显著的交互作用（*P*>0.05）。

表 4　饲粮能量水平和皮质酮处理对 28~34 日龄肉仔鸡肝脏 FAS 活性的影响

Table 4　Effects of dietary energy level and corticosterone treatment on FAS activity in liver of chickens aged

from 28 to 34 days　　　nmol/mg prot

组别 Groups	高能饲粮 High energy diet	低能饲粮 Low energy diet	平均值 Average	*P* 值 *P*-value 皮质酮 Corticosterone	饲粮能量水平 Dietary energy level	交互作用 Interaction effect
对照组 Control group	84.93±20.68	27.28±6.62	56.10	0.051 2	0.112 7	0.346 3
应激组 Stress group	110.31±23.70	94.65±28.31	102.48			
平均值 Average	97.62	60.97				

2.3　地塞米松处理对肉仔鸡肝脏中甘油三酯含量以及 *AMPK*、*SREBP*-1 mRNA 表达量的影响

由表 6 可见，与配对组相比，地塞米松处理显著增加了肝脏中甘油三酯的含量（*P*<0.05），但与对照组相比没有显著差异（*P*>0.05）。这表明肝脏甘油三酯含量的增加是由地塞米松处理引起的，而不是较高采食量引起的。

由表 7 可见，与配对组相比，地塞米松处理显著提高了肝脏中 *AMPK* mRNA 表达量（*P*<0.05）；地塞米松处理使得肝脏中 *SREBP*-1 mRNA 的表达量显著高于对照组和配对组（*P*<0.05）。

表 6　地塞米松处理对肉仔鸡肝脏中甘油三酯含量的影响

Table 6　Effects of dexamethasone treatment on triglyceride content in liver of chickens　　mmol/L

项目 Item	应激组 Stress group	对照组 Control group	配对组 Pair-fed group	*P* 值 *P*-value
甘油三酯 Triglyceride	1.87±0.02[a]	1.60±0.19[ab]	1.28±0.10[b]	0.080

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著(*P*<0.05)。表 7 同。

Values in the same line with different small letter superscripts mean significantly different (*P*<0.05). The same as Table 7.

表 7　地塞米松处理对肉仔鸡肝脏 *AMPK* 和 *SREBP*-1 mRNA 表达量的影响

Table 7　Effects of dexamethasone treatment on mRNA expressions of *AMPK* and *SREBP*-1 in liver of chickens

项目 Items	应激组 Stress group	对照组 Control group	配对组 Pair-fed group	*P* 值 *P*-value
腺苷一磷酸激活的蛋白激酶	0.045±0.007[a]	0.034±0.004[ab]	0.023±0.003[b]	0.020

AMPK				
固醇调节元件结合蛋白–1 *SREBP*-1	0.003 0±0.000 7[a]	0.001 0±0.000 3[b]	0.000 9±0.000 5[b]	0.038

2.4 皮质酮处理和葡萄糖饮水对肉仔鸡肝脏 FAS 活性的影响

由表 8 可见，皮质酮处理和葡萄糖饮水都没有对肉仔鸡肝脏 FAS 的活性造成显著的影响（$P>0.05$），但皮质酮处理和葡萄糖饮水之间存在显著交互作用（$P<0.05$），这表明应激所导致的脂肪酸合成的增加，可通过葡萄糖饮水而得到缓解。

表 8　皮质酮处理和葡萄糖饮水对肉仔鸡肝脏 FAS 活性的影响

Table 8　Effects of corticosterone treatment and glucose supplementation in drinking water on FAS activity in liver of chickens

组别 Groups	葡萄糖 Glucose	糖精 Saccharin	平均值 Average	*P* 值 *P*-value		
				皮质酮 Corticosterone	葡萄糖 Glucose	交互作用 Interaction effect
对照组 Control group	721.8±23.0	507.5±92.8	627.48	0.569 5	0.491 3	0.013 8
应激组 Stress group	604.9±80.9	727.5±33.9	663.36			
平均值 Average	666.21	624.38				

3 讨　论

应激反应是机体生理平衡的破坏与恢复的过程。这一过程依赖于交感神经系统与下丘脑—垂体—肾上腺轴的激活，其中肾上腺皮质释放的糖皮质激素对维持体内环境稳定是必不可少的，而对于家禽主要的糖皮质激素为皮质酮。地塞米松是一种人工合成的糖皮质激素，对糖皮质激素受体的亲和力较高，因在血浆中清除较慢，因而能增加在组织中的作用时间[10]。在以前的试验中，皮质酮和地塞米松处理显著降低了肉仔鸡平均日增重和饲料转化率，而提高了血浆尿酸和血糖水平，这表明皮质酮和地塞米松诱导了肉仔鸡的应激反应[4,7]。本试验正是在此基础上进行的。

肝脏在动物的脂肪代谢中发挥至关重要的作用。对于禽类，肝脏是脂肪酸合成的主要部位。当肝脏内脂肪代谢失衡，即脂肪的吸收和从头合成的量超过其氧化和重新酯化的量时，多余的脂肪堆积在肝细胞内，产生脂肪肝，并伴随全身的代谢紊乱。本试验中，皮质酮处理显著提高了 3~9 日龄肉仔鸡肝脏 FAS 的活性，有提高 28~34 日龄肉仔鸡肝脏 FAS 活性的趋势。许多试验都表明糖皮质激素处理能显著增加肉仔鸡腹脂、颈脂和腿脂占体重的比例[5-6]。而 FAS 是肝脏内合成脂肪酸的关键酶，该酶活性的提高表明皮质酮处理可促进肝脏脂肪酸

的从头合成，从而使体内脂肪沉积增加。本研究发现，地塞米松处理能显著增加肝脏的甘油三酯含量，这一结果也与以前的研究一致[11-14]。肝脏中甘油三酯含量增加也正是由 FAS 活性提高引起的。本研究中饲粮的能量水平并未对肉仔鸡肝脏中 FAS 的活性造成显著的影响。但 Jiang 等[5]的研究表明，高能饲粮能提高肉仔鸡的脂肪沉积，其原因可能是血浆中甘油三酯和极低密度脂蛋白的增加增强了体内脂肪沉积。

给应激肉仔鸡的饮水中添加葡萄糖，能显著降低肉仔鸡肝脏 FAS 的活性，这表明葡萄糖具有缓解肉仔鸡应激的作用。研究表明，葡萄糖处理对肉仔鸡日增重和体重影响不显著，而显著降低了肉仔鸡的日采食量和料重比[6]，这表明葡萄糖处理在一定程度上能提高肉仔鸡的生产性能。这可能归因于葡萄糖作为能源物质，摄入体内后能够更有利于补充机体对能量的需求，从而在一定程度上减缓应激的危害。

为了从更深层次探讨应激造成肉仔鸡脂肪沉积增加的原因，我们还研究了应激对调节脂肪合成相关酶的上游因子的影响。肝脏脂肪酸合成受到一些核转录因子的调控，固醇调节元件结合蛋白(SREBPs)是核转录因子的一员，它通过调控胆固醇、脂肪酸、甘油三酯和磷脂合成时所需的一系列酶而调节脂类代谢。SREBPs 家族有 3 个成员，分别是 SREBP-1a、SREBP-1c 以及 SREBP-2。小鼠肝脏过量表达 *SREBP-1c* 能促进脂肪合成基因的表达，而对胆固醇合成相关基因没有影响[15]。Foretz 等[16]的研究发现，在分离的肝细胞中过量表达 *SREBP-1c* 不仅能促进脂肪酸合成基因的表达而且能促进葡萄糖激酶的表达[16]。本研究发现，地塞米松处理能显著提高肝脏中 *SREBP-1* mRNA 的表达。相关试验也表明，地塞米松处理能显著提高肉仔鸡肝脏脂肪酸合成有关基因的表达量[7]。由此推断，应激导致的脂肪酸合成增加是通过 *SREBP-1* 来调控的，即 *SREBP-1* 通过直接或间接地调控脂肪酸从头合成基因的表达，从而促进了脂肪酸的合成，最终使肝脏的甘油三酯含量显著增加。

AMPK 是一个由 α、β 和 γ 亚基形成的异源三聚体。AMPK 激活能抑制能量消耗的通路，如蛋白质和脂肪酸和合成，同时能激活生成能量的通路，如糖酵解和脂肪酸的 β–氧化[17]。AMPK 激活能抑制脂肪酸合成的限速酶乙酰辅酶 A 羧化酶（ACC）的活性，从而使脂肪酸合成受阻。而地塞米松处理能增加肝脏 ACC 的活性以及其 mRNA 的表达量[7]。但本研究发现地塞米松处理激活了 *AMPK* 的表达，如果脂肪的合成只通过 AMPK 来调控，那么脂肪沉积该减少，但本研究却发现脂肪沉积增加了。其原因可能是，还有其他的因子调节 ACC、FAS 等脂肪酸合成酶的活性和表达量，如 SREBP-1，而这些因子对 ACC、FAS 等影响的幅度更大，最终使机体朝着脂肪酸合成的方向发展。通过在培养基中加入活性氧如 H_2O_2 或 NO 而引起的氧化应激能激活 AMPK[18]。本试验也表明，地塞米松处理可提高 *AMPK* 的表达量。这也与体外培养的肝细胞热应激 60 和 120 min AMPK 的活性增加相一致[19]。应激所引起的 AMPK 的激活，能将能量用于更重要的细胞和组织，从而减轻应激所带来的危害。

4 结 论

① 饲粮能量水平未对肉仔鸡肝脏的 FAS 活性产生显著影响；而糖皮质激素可提高肉仔

鸡肝脏中 FAS 的活性，从而促进甘油三酯在肝脏中的沉积。

② FAS 活性的增加受到核转录因子 SREBP-1 的调控。应激所导致的 AMPK 的激活可将能量用于更重要的细胞和组织，从而减轻应激所带来的危害。

③ 在饮水中添加葡萄糖能显著降低应激中肉仔鸡肝脏 FAS 的活性，表明葡萄糖具有缓解应激的作用。

参考文献：

[1] REBUFFÉ-SCRIVE M,WALSH U A,MCEWEN B,et al.Effect of chronic stress and exogenous glucocorticoids on regional fat distribution and metabolism[J].Physiology & Behavior,1992,52(3):583–590.

[2] STRACK A M,BRADBURY M J,DALLMAN M F.Corticosterone decreases nonshivering thermogenesis and increases lipid storage in brown adipose tissue[J].The America Journal of Physiology,1995,268(1 Pt 2):R183-R191.

[3] BELL M E,BHATNAGAR S,LIANG J,et al.Voluntary sucrose ingestion,like corticosterone replacement,prevents the metabolic deficits of adrenalectomy[J].Journal of Neuroendocrinology,2000,12(5):461–470.

[4] DONG H,LIN H,JIAO H C,et al.Altered development and protein metabolism in skeletal muscles of broiler chickens (*Gallus gallus domesticus*) by corticosterone[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part A:Molecular & Integrative Physiology,2007,147(1):189–195.

[5] JIANG K J,JIAO H C,SONG Z G,et al.Corticosterone administration and dietary glucose supplementation enhance fat accumulation in broiler chickens[J].British Poultry Science,2008,49(5):625–631.

[6] YUAN L,LIN H,JIANG K J,et al.Corticosterone administration and high-energy feed results in enhanced fat accumulation and insulin resistance in broiler chickens[J].British Poultry Science,2008,49(4):487–495.

[7] CAI Y L,SONG Z G,ZHANG X H,et al.Increased de novo lipogenesis in liver contributes to the augmented fat deposition in dexamethasone exposed broiler chickens (*Gallus gallus domesticus*)[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part C:Toxicology & Pharmacology,2009,150(2):164–169.

[8] MANTHA L,PALACIOS E,DESHAIES Y.Modulation of triglyceride metabolism by glucocorticoids in diet-induced obesity[J].The American Journal of Physiology,1999,277(2 Pt 2):R455-R464.

[9] HALESTRAP A P,DENTON R M.Insulin and the regulation of adipose tissue acetyl-coenzyme A carboxylase[J].The Biochemical Journal,1973,132(3):509–517.

[10] FOUCAUD L,NIOT I,KANDA T,et al.Indirect dexamethasone down-regulation of the liver fatty acid-binding protein expression in rat liver[J].Biochimica et Biophysica Acta (BBA)：Lipids and Lipid Metabolism,1998,1391(2):204–212.

[11] PUVADOLPIROD S,THAXTON J P.Model of physiological stress in chickens 1.Response parameters[J].Poultry Science,2000,79(3):363–369.

[12] PUVADOLPIROD S,THAXTON J P.Model of physiological stress in chickens 2.Dosimetry of adrenocorticotropin[J].Poultry Science,2000,79(3):370–376.

[13] MALHEIROS R D,MORAES V M,COLLIN A,et al.Free diet selection by broilers as influenced by dietary macronutrient ratio and corticosterone supplementation.1.Diet selection,organ weights,and plasma metabolites[J].Poultry Science,2003,82(1):123–131.

[14] LIN H,SUI S J,JIAO H C,et al.Impaired development of broiler chickens by stress mimicked by corticosterone exposure[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part A:Molecular & Integrative Physiology,2006,143(3):400–405.

[15] SHIMANO H,HORTON J D,SHIMOMURA I,et al.Isoform 1c of sterol regulatory element binding protein is less active than isoform 1a in livers of transgenic mice and in cultured cells[J].The Journal of Clinical Investigation,1997,99(5):846–854.

[16] FORETZ M,GUICHARD C,FERRÉ P,et al.Sterol regulatory element binding protein-1c is a major mediator of insulin action on the hepatic expression of glucokinase and lipogenesis-related genes[J].Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America,1999,96(22):12737–12742

[17] KOHAN A B,TALUKDAR I,WALSH C M,et al.A role for AMPK in the inhibition of glucose-6-phosphate dehydrogenase by polyunsaturated fatty acids[J].Biochemical and Biophysical Research Communications,2009,388(1):117–121.

[18] CARDACI S,FILOMENI G,CIRIOLO M R.Redox implications of AMPK-mediated signal transduction beyond energetic clues[J].Journal of Cell Science,2012,125(Pt 9):2115–2125.

[19] 郑萍,陈代文,张克英,等.热应激对体外仔猪肝细胞 AMPK 活性及脂质代谢产物的影响[J].营养学报,2007,29(1):23–26,30.

Effects of Stress and Dietary Energy Level on Fatty Synthesis in Liver of Broiler Chickens

CAI Yuanli[1] LIN Hai[2*i]

(1. *College of Life Sciences, Qilu Normal University, Jinan* 250013, *China*; 2. *Department of Animal Science, Shandong Agricultural University, Taian* 271018, *China*)

Abstract: The objective of this study was to explore fatty acid synthase (FAS) activity, expressions of AMP-activated protein kinase (*AMPK*) and sterol-regulatory element binding proteins-1 (*SREBP*-1) mRNA in liver of broiler chickens treated by glucocorticoid or dietary energy level in order to explain why stress can raise the hepatic triglyceride and look for ways to relieve stress. There were four trials in this study. In the first and the second trials, broiler chickens fed high and low different energy level of diets were challenged with corticosterone from 3 to 9 days of age and 28 to 34 days of age, respectively. At the end of the two trials, livers were removed for measuring FAS activity. In the third trial, 108 male Arbor Acres chickens with 7 days of age were divided into 3 groups injected with dexamethasone (stress group), saline (control group) and saline (a

pair-fed group, with the same feed intake compared to stress group) for 7 d, respectively. At the 14 days of age, the liver was removed to determine the triglyceride content and expressions of *AMPK* and *SREBP*-1 mRNA. In the last trial, chickens aged from 3 to 9 days were treated with corticosterone and drinking water supplemented with glucose, and FAS activity was measured in the end. The results showed as follows: 1) FAS activity was significantly increased by corticosterone treatment in chickens of 3 to 9 days old (P<0.05), and had the increasing trend in chickens of 28 to 34 days old (P=0.051 2). 2) Compared with the pair-fed group, dexamethasone administration resulted in enhanced triglyceride content in liver (P<0.05), and the *AMPK* mRNA expression level in liver was significantly up-regulated (P<0.05). The *SREBP*-1 mRNA expression level in liver of chickens treated with dexamethasone were significantly higher than those of control and pair-fed groups (P<0.05). 3) Glucose supplementation could significantly decrease the FAS activity in liver of chickens during stress (P<0.05). In conclusion, corticosterone treatment can increase the FAS activity in liver of broiler chickens, dexamethasone administration can increase *SREBP*-1 mRNA expression level in liver and activate AMPK, and glucose can relieve the harm of stress.

Key words: broiler chickens; stress; lipid deposition; FAS; AMPK; SREBP-1

---

*Corresponding author, professor, E-mail: hailin@sdau.edu.cn (责任编辑　田艳明)